



HCV Rapid Test Cassette (Siero/Plasma)

Manuale d'istruzioni

REF IHCV-C31	Italiano
--------------	----------

Test rapido per la determinazione qualitativa di anticorpi diretti contro il virus dell'epatite C (HCV) su campioni di siero o plasma umano
Per uso professionale esclusivo "in vitro"

【IMPIEGO】

HCV Rapid Test Cassette (Siero/Plasma) è un test rapido, immunocromatografico (su card), per la ricerca (qualitativa) di anticorpi specifici anti-HCV in campioni di siero o plasma umani.

HCV Rapid Test Cassette (Siero/Plasma) NON DEVE ESSERE UTILIZZATO per analizzare sangue o emoderivati provenienti da donatori umani o su organi da trapianto umani

【SOMMARIO】

Il virus dell'epatite C (HCV) è un piccolo RNA-virus, a singolo filamento con polarità positiva, rivestito da involucro nucleocapsidico. L'HCV è l'agente eziologico della epatite C., di alcune neoplasie maligne quali il cancro del fegato (carcinoma epatocellulare, ovvero HCC) e di linfomi umani. L'HCV è anche agente causale della maggior parte delle epatiti a trasmissione parenterale di tipo non-A, non-B. Anticorpi diretti contro l'HCV si riscontrano in oltre l'80% di pazienti con infezione documentata sostenuta da virus di epatiti non-A, non-B. I metodi convenzionali attualmente utilizzati in diagnostica non sono in grado di permettere l'isolamento dell'HCV in colture cellulari o visualizzarlo mediante tecniche di microscopia elettronica. Soltanto clonando il genoma virale è stato possibile sviluppare tests sierologici, impiegando antigeni ricombinanti.^{4,5} I metodi immunoenzimatici di prima generazione impiegavano in singolo antigene ricombinante, mentre i recenti test diagnostici utilizzano diversi specifici antigeni, ottenuti da proteine ricombinanti e/o da peptidi sintetici in moda da evitare cross-reattività aspecifiche ed incrementare la sensibilità dei test anticorpali anti-HCV.^{4,5}

HCV Rapid Test Cassette (Siero/Plasma) è un test rapido in grado di determinare qualitativamente la presenza di anticorpi diretti contro l'HCV in campioni di siero o plasma umani. La metodologia analitica impiega un coniugato in oro colloidale e proteine ricombinanti provenienti dall'HCV in grado di identificare selettivamente anticorpi anti-HCV eventualmente presenti nel campione. Le proteine ricombinanti da virus dell'epatite C, utilizzate nel presente metodo, sono codificate da geni che esprimono sia proteine strutturali (nucleocapsidiche) che proteine non-strutturali.

【PRINCIPIO DEL METODO】

HCV Rapid Test Cassette (Siero/Plasma) è un immunotest qualitativo, su membrana immunocromatografica, per la ricerca di anticorpi diretti contro l'HCV in campioni di siero o sangue umani. La membrana viene rivestita, in corrispondenza della linea T della card con antigeni ricombinanti da HCV. Durante lo sviluppo del test il campione di siero o plasma reagisce con gli antigeni ricombinanti da HCV, coniugati ad oro colloidale. La miscela formatasi migra attraverso la membrana immunocromatografica per capillarità, reagendo con antigeni ricombinanti da HCV e, se presenti anticorpi anti-HCV nel campione, generando una linea colorata in corrispondenza della regione T. La presenza di tale linea colorata (T=Test) indica un risultato POSITIVO, mentre la sua assenza indica un risultato NEGATIVO. Quale controllo procedurale deve sempre svilupparsi una linea colorata in corrispondenza della regione C (Controllo), ad indicare il corretto volume di campione inoculato nel pozzetto S della card e la corretta migrazione del campione stesso.

【REAGENTI】

La card contiene antigeni ricombinanti da HCV coniugati ad oro colloidale e antigeni da HCV che rivestono la membrana immunocromatografica e tampone in fialone contagocce (Buffer allo 0.09%Na₃+0.025%Kanamicina Solfato)

【PRECAUZIONI】

- Per uso professionale esclusivo "in vitro". Non utilizzare mai oltre la data di scadenza.
- Non assumere cibi, bevande o fumare durante l'esecuzione del test
- Manipolare tutti i campioni come se si trattasse di materiale infetto. Osservare tutte le precauzioni stabilite per evitare contaminazioni. Seguire tutte le procedure di legge per la manipolazione e la successiva eliminazione del materiale utilizzato.
- Indossare i previsti D.P.I., quali camici da Laboratorio, guanti monouso e occhiali o visiera facciale, durante ogni fase della procedura analitica.
- L'umidità e la variabilità della temperatura ambiente possono avere effetti negativi sui risultati.

【CONSERVAZIONE E STABILITÀ】

The kit può essere conservato a temperatura ambiente o refrigerato (2-30°C). Le card sigillate sono stabili fino alla data di scadenza stampigliata sul

sacchetto, soltanto se questo viene mantenuto sigillato. Il tampone, una volta aperto, può essere conservato a T.A., fino e non oltre 45 giorni. Le card devono rimanere nel proprio sacchetto sigillato fino al momento dell'uso. Il NON CONGELARE.

【RACCOLTA DEL CAMPIONE E PREPARAZIONE】

- Si possono utilizzare, indifferentemente, campioni si siero o plasma.
- Separare il siero o il plasma dal sangue intero al più presto possibile per evitare l'emolisi. Possono essere utilizzati esclusivamente campioni non emolizzati e limpidi.
- La procedura analitica dovrebbe essere iniziata quanto prima dopo la raccolta del campione. Non lasciare i campioni a T.A. per periodi prolungati. I campioni possono essere conservati a 2-8°C fino a 3 giorni. I campioni possono essere congelati a -20°C ed in tal modo sono stabili fino a 6 mesi.
- Prima della seduta analitica, portare i campioni a T.A. Campioni conservati a -20°C devono essere completamente scongelati e mescolati accuratamente prima dell'analisi. Evitare ripetuti congelamenti-scongelamenti dei campioni.
- Qualora i campioni debbano essere spediti, dovranno essere confezionati secondo la Normativa Vigente esistente in merito al trasporto di materiale pericoloso.

【MATERIALE NECESSARIO】

A corredo nel kit

Card Contagocce
Tampone (Buffer: 0.09%Na₃+0.025%Kanamicina Solfato)
Manuale d'istruzione

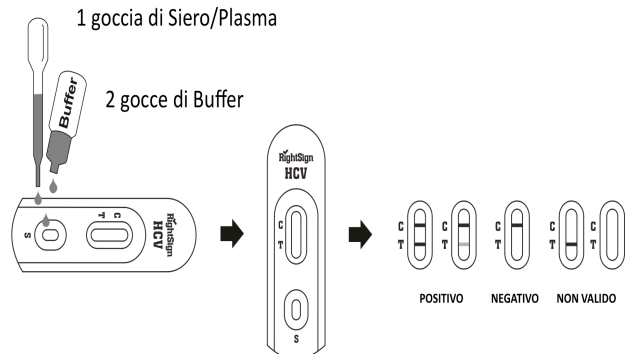
Richiesto ma non in dotazione

Provette Centrifuga Timer

【PROCEDURA OPERATIVA】

Portare tutto il materiale reagentario ed i campioni a T.A. (15-30°C) prima della seduta analitica.

- Rimuovere ciascuna card dall'involucro sigillato ed utilizzarla al più presto. I migliori risultati si ottengono utilizzando la card entro 1 ora
- Posizionare la card su una superficie pulita ed in piano. Mantenendo il contagocce in posizione verticale dispensare 1 goccia di siero o plasma (approssimativamente 25 µL) nel pozzetto S presente sulla card, quindi aggiungere 2 gocce di buffer (approssimativamente 80 µL) e far partire il timer. Evitare la formazione di bolle che potrebbero rimaner intrappolate nel pozzetto S. Vedi illustrazione sotto riportata.
- Attendere lo sviluppo delle linee colorate. I risultati dovrebbero essere registrati dopo **10 minuti dall'inoculo**. Non interpretare i risultati oltre i **20 minuti**.



【INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI】

POSITIVO: *Si sviluppano 2 distinte linee colorate: una in corrispondenza della regione C (Controllo) ed una in corrispondenza della regione T (Test).

*NOTA: l'intensità della colorazione della linea (T) varia in relazione alla concentrazione degli anticorpi anti-HCV presente nel campione. Pertanto, qualsiasi gradazione di rosato sviluppata nella regione T deve essere considerata positiva.

NEGATIVO: Si sviluppa una sola linea colorata in corrispondenza della regione C. Non si sviluppa alcuna linea colorata in corrispondenza della regione T.

NON VALIDO: Non si sviluppa la linea colorata C. Le più probabili cause di tale artefatto possono essere ricercate in un insufficiente volume di campione inoculato o in un'erronea procedura di analisi. Ricontrrollare la procedura e ripetere il test utilizzando una nuova card. Qualora il problema persista, non utilizzare più il kit e contattare il fornitore.

【CONTROLLO DI QUALITÀ】

Nella card è inserito un controllo procedurale interno. Lo sviluppo della linea colorata in corrispondenza della regione C rappresenta tale controllo interno a conferma della corretta esecuzione del test
Campioni biologici di controllo non sono inseriti nel kit; comunque, la B.P.L. prevede l'utilizzo di idoneo materiale di controllo

【LIMITAZIONI DEL METODO】

- HCV Rapid Test Cassette (Siero/Plasma) è per uso esclusivo "in vitro" e può essere utilizzato per la ricerca di anticorpi anti-HCV in campioni di siero o plasma umani.
- HCV Rapid Test Cassette (Siero/Plasma) può indicare esclusivamente la presenza di anticorpi anti-HCV nel campione e non può essere impiegato quale unico criterio diagnostico per la diagnosi di epatite virale di tipo C.
- Come per qualunque altro test diagnostico, i risultati devono essere valutati in relazione a tutte le ulteriori evidenze cliniche.
- Qualora il test risulti negativo, ma i sintomi clinici persistano, si raccomanda di eseguire tutti gli ulteriori e più approfonditi test diagnostici disponibili. Un risultato negativo non preclude la possibilità d'infezione causata da HCV.

【CORRELAZIONE】

HCV Rapid Test Cassette (Siero/Plasma) è stato confrontato con un test HCV-Ab ELISA di riferimento regolarmente in commercio. La correlazione tra questi due sistemi analitici è risultata 99.8%

【CARATTERISTICHE DEL METODO】

Sensibilità e Specificità

Gli antigeni ricombinanti utilizzati nella formulazione di HCV Rapid Test Cassette (Siero/Plasma) sono codificati da geni che esprimono sia proteine strutturali (nucleocapsidiche) che proteine non-strutturali. HCV Rapid Test Cassette (Siero/Plasma) è stato ulteriormente validato utilizzando un pannello di siero conversione e confrontandolo con un HCV-ELISA test di riferimento in commercio, utilizzando campioni clinici. I risultati hanno evidenziato una sensibilità diagnostica del metodo =100%, e una specificità diagnostica pari al 99.8%.

	Metodo	HCV Rapid Test Cassette		Concordanza
		Risultati	Positivi	
Positivo	HCV Siero/Plasma per Genotipo 1~4	90	0	100.0% (90/90)
	HCV Siero/Plasma per Genotipo 5	6	0	100.0% (6/6)
	HCV Siero/Plasma per Genotipo 6	2	0	100.0% (2/2)
	Altri genotipi HCV positivi Siero/Plasma	312	0	100.0% (312/312)
Totale		410	0	100.0% (410/410)
Negativo	Donatori sangue (Siero)	1	1024	99.9%(1024/1025)
	Campioni clinici negativi Siero/Plasma	0	200	100.0%(200/200)
	Campioni negativi da donne in gravidanza (Siero)	1	199	99.5% (199/200)
	Campioni potenzialmente interferenti (Plasma)	1	121	99.2% (121/122)
Totale		3	1544	99.8%(1544/1547)
Risultati Totali		413	1544	99.8%(1954/1957)

Sensibilità relativa= 410/410=100.0% (95%CI*: 99.3%~100.0%);
Specificità relativa=1544/1547= 99.8% (95%CI*: 99.4%~100%);
Accuratezza= (410+1544)/ (410+0+1544+3) = 99.8% (95%CI*:99.6%~100.0%).
*intervalli di confidenza

Siero vs. Plasma

Specificità in campioni sieronegativi di siero e plasma appaiati

Un totale di 100 campioni sieronegativi per HCV in modalità di appaiamento (siero e plasma) sono stati analizzati, rispettivamente con *HCV Rapid Test Cassette (Siero/Plasma)*.

Come si può osservare, esiste una eccellente concordanza tra siero e plasma in base ai risultati ottenuti utilizzando *HCV Rapid Test Cassette (Siero/Plasma)* su campioni sieronegativi.

Tipo di campione biologico	Numero di campioni analizzati	Concordanza per risultati negativi utilizzando <i>HCV Rapid Test Cassette (Siero/Plasma)</i>
Campioni di siero appaiati	100	100.0%(100/100)
Campioni di plasma appaiati	100	100.0%(100/100)

Sensibilità in campioni sieropositivi di siero e plasma appaiati

Un totale di 60 campioni sieropositivi in modalità di appaiamento (siero e plasma) sono stati analizzati, rispettivamente con *HCV Rapid Test Cassette (Siero/Plasma)*.

Come si può osservare, esiste una eccellente concordanza tra siero e plasma in base ai risultati ottenuti utilizzando *HCV Rapid Test Cassette (Siero/Plasma)* su campioni sieropositivi.

Tipo di campione biologico	Numero di campioni analizzati	Concordanza per risultati positivi utilizzando <i>HCV Rapid Test Cassette (Siero/Plasma)</i>
Campioni di siero appaiati	60	100.0%(60/60)
Campioni di plasma appaiati	60	100.0%(60/60)

Precisione Intrasaggio

La precisione intrasaggio è stata determinata impiegando 20 replicati di tre campioni: un negativo, un HCV positivo a basso titolo e un HCV positivo ad alto titolo. Il negativo, l'HCV positivo a basso titolo e l'HCV positivo ad alto titolo sono stati correttamente identificati il 100% delle volte.

Intersaggio

La precisione intersaggio è stata determinata eseguendo 20 indipendenti sedute sui medesimi tre campioni: un negativo, un HCV positivo a basso titolo e un HCV positivo ad alto titolo. Tre diversi lotti di *HCV Rapid Test Cassette (Siero/Plasma)* sono stati testati per un periodo di 3 mesi utilizzando un negativo, un HCV positivo a basso titolo e un HCV positivo ad alto titolo. I campioni sono stati correttamente identificati il 100% delle volte.

Cross-reattività

Non sono state osservate cross-reattività per *HCV Rapid Test Cassette (Siero/Plasma)* quando sono stati testati campioni reattivi per HAMA, HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb, anti-HIV, anti-Sifilide, anti-H.Pylori, MONO, anti-CMV, anti-Rubella e anti-Toxoplasma. Parziale cross-reattività è stata osservata con campioni positivi per Fattori Reumatoidi, e EBV IgM

Interferenze analitiche

Le seguenti sostanze potenzialmente interferenti sono state aggiunte (alle concentrazioni indicate) a campioni HCV-Ab negativi e positivi.

Acetaminofene: 20 mg/dL	Caffeina: 20 mg/dL
Acido Acetilsalicilico: 20 mg/dL	Acido Gentisico: 20 mg/dL
Acido ascorbico: 2g/dL	Albumina: 2 g/dL
Creatina: 200 mg/dL	Emoglobina: 1000mg/dL
Bilirubina: 1g/dL	Acido Ossalico: 60mg/dL

Nessuna delle sostanze elencate alla concentrazione testata ha prodotto interferenze

【BIBLIOGRAFIA】

- Ferri, Clodoveo (2015). "HCV syndrome: A constellation of organ- and non-organ specific autoimmune disorders, B-cell non-Hodgkin's lymphoma, and cancer". *World Journal of Hepatology*. 7 (3): 327.
- Choo, Q.L., G. Kuo, A.J. Weiner, L.R. Overby, D.W. Bradley, and M. Houghton. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989; 244:359
- Kuo, G., Q.L. Choo, H.J. Alter, and M. Houghton. An assay for circulating antibodies to a major etiologic Virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 1989; 244:362
- van der Poel, C. L., H.T.M. Cuyppers, H.W. Reesink, and P.N.Lelie. Confirmation of hepatitis C Virus infection by new four-antigen recombinant immunoblot assay. *Lancet* 1991; 337:317
- Wilber, J.C. Development and use of laboratory tests for hepatitis C infection: a review. *J. Clin. Immunoassay* 1993; 16:204

Indice dei Simboli

	Attenzione, seguire le istruzioni per l'uso		Tests per kit		Rappresentante Autorizzato
	Per uso esclusivo "in vitro"		Utilizzare entro		Non riutilizzare
	Conservare a 2-30°C		Numero di Lotto		N. Catalogo #
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata				

Codici di Riordino:

IHCV-C31 *HCV Rapid Test Cassette (Siero/Plasma)* 25 determinazioni

Biotest
 Manufacturer Hangzhou Biotest Biotech Co., Ltd.
 17#, Futai Road, Zhongtai Street,
 Yuhang District, Hangzhou, P. R. China

1434

Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europe)
 Eiffestrasse 80,
 20537 Hamburg, Germany

Number: RP5004813

Effective date: 2018-02-23

ESCLUSIVISTA PER L'ITALIA:



clinical reagent specialists